
基礎系教育講演

歯周病と抗酸化物質

玉木 直文

キーワード：酸化ストレス，抗酸化力，歯周病

Periodontitis and Antioxidants

Naofumi TAMAKI

Abstract : Reactive oxygen species (ROS), which include super oxide ($O_2^{\cdot-}$), hydroxyl radical (HO^{\cdot}), singlet oxygen (1O_2) and hydrogen peroxide (H_2O_2), are products of normal cellular metabolism. ROS are well recognized for playing a dual role as both deleterious and beneficial effects to living systems. The harmful effects occur in biological systems when there is a overproduction of ROS on one side and a lack of enzymatic or non-enzymatic antioxidants on the other side. Furthermore, oxidative stress results from the metabolic reactions which use oxygen and represents a disturbance in the equilibrium status of antioxidants in living organisms. The excess of ROS can damage proteins, cellular lipids, and DNA inhibiting their normal function. Therefore, oxidative stress has been implicated in a number of human diseases as well as periodontitis. Recently, clinical studies have noted that the patients of periodontitis have elevated blood levels of oxidative stress compared to periodontally healthy subjects in the cross sectional design. Additionally, the increased oxidative stress is significantly associated with the progression of periodontitis. In longitudinal study, periodontal treatment decreases oxidized low density lipoprotein levels and total oxidative status in the blood of chronic periodontitis patients. In recent years, many compounds and plant extracts have considerable antioxidant activity, and applied to animal experimental periodontitis models. Investigations provided their possibility for preventive effects on periodontitis. For example, polyphenol including flavonoid revealed both antioxidant and anti-inflammation effect, suppressing the progression of periodontitis by decreasing gingival oxidative stress. In particular, rats were given resveratrol as drinking water and experimental periodontitis was induced in our study. As a result, resveratrol intake relieved alveolar bone resorption and activated the Sirtuin1 / AMP-activated protein kinase and the nuclear factor E2-related factor 2 / antioxidant defense pathways in inflamed gingival tissues. Moreover, resveratrol improved the systemic levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, dityrosine, nitric oxide metabolism, nitrotyrosine, and proinflammatory cytokines. We concluded that oral administration of antioxidants could prevent the progression of experimental periodontitis and improve systemic oxidative stress.

はじめに

活性酸素種について、近年注目が集まっている。活性酸素種の種類としては、スーパーオキシド ($O_2^{\cdot-}$)、ヒドロキシルラジカル (HO^{\cdot})、一重項酸素 (1O_2) や過酸化水素 (H_2O_2) などが知られているが、不安定で寿命が短く反応性に富む酸素分子種ということが共通する性質である。これらは生命維持に必要なエネルギーを得るためのミトコンドリアによる細胞代謝の過程において発生し、種々の酵素や金属イオンなどの働きによってさまざまに変化する (図1)。また広義の活性酸素種には一酸化窒素 (NO) も含まれるが、生体内においてはL-アルギニンから一酸化窒素合成酵素 (NOS) によって合成される。一酸化窒素は殺菌作用を示すだけではなく、血管拡張や神経伝達物質としても機能することが分かっている。さらに、一酸化窒素とスーパーオキシドとの反応によって、極めて酸化力と毒性の高いペルオキシナイトライトが生成されることが知られている (図1)。これらの活性酸素種は生体の抗酸化力によって消去されているが、過剰に生成された場合は様々な物質に対して非特異的な化学反応をもたらし、細胞の特にDNAを損傷するなどの有害性がある¹⁾。この活性酸素種の酸化損傷力と抗酸化力とのバランスによって成り立っているのが酸化ストレスであるが、近年では100種類以上の様々な疾患との関連性について報告されている。代表的な疾患としては炎症、動脈硬化、脳血栓、アルツハイマー認知症、パーキンソン病、糖尿病、癌、アレルギーや心疾患など^{2,4)} があげられるが、我々は今まで歯周病との関連性についての研究を行ってきた。また、これらの多くの疾患において、活性酸素種が疾患の発生の要因となっているのか、それとも組織の損傷などから二次的に活性酸素種が作り出されているのかは未だ不明確である。そのような現状の中、抗酸化物質の摂取によって活性酸素種を消去することで疾患を予防・治療しようとする研究も行われてきた。本稿では、歯周病と酸化ストレスについての臨床研究によって分かかってきた関連性についてと、動物実験における抗酸化物質摂取による歯周病進行抑制効果、抗酸化作用と抗炎症作用についての様々な知見を解説する。

1. 歯周病と酸化ストレス

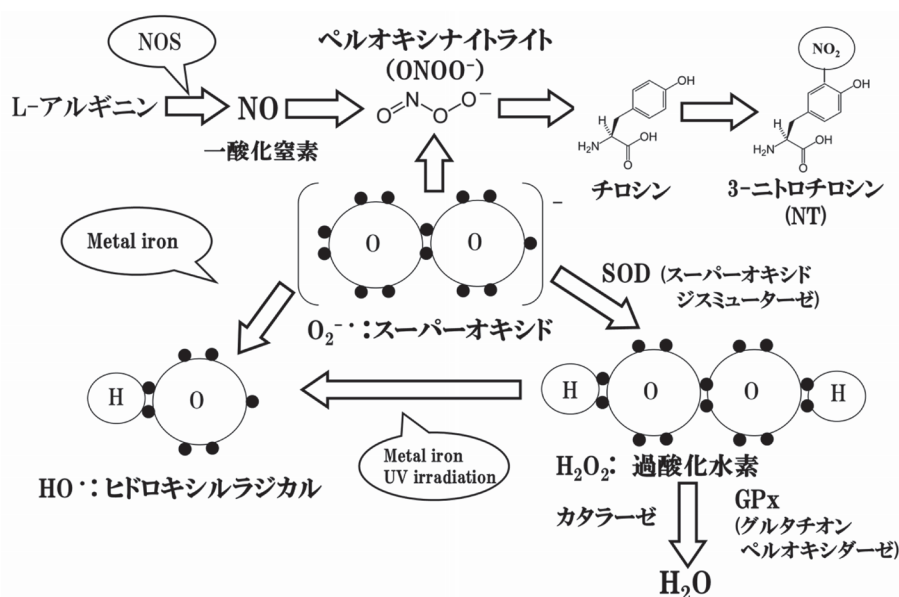
歯周病は歯垢中の病原性細菌が原因で引き起こされ、進行する疾患であると考えられている⁵⁾。しかし、宿主側の細菌性病原因子に対する過剰な反応もまた、歯周病の進行に大きく寄与していることも知られている⁶⁾。さらに近年では、歯周病によって活性酸素種の産生が促されるということもまた分かかってきた⁷⁾。口腔内細菌の病原因子による刺激により、宿主細胞は免疫反応の一つとしてinterleukin-1 β (IL-1 β) やtumor necrosis factor- α (TNF- α) などの炎症性サイトカインを放出する⁸⁾ が、これらのサイトカインが炎症部位に好中球を誘導し、細

菌性のリポポリサッカライド (LPS) など病原因子の刺激によって、エラスターゼ酵素を防御的に産生するとともに活性酸素種も産生する⁹⁾。産生された活性酸素種は細胞外に放出されることになるが、細菌に特異的に作用する訳ではなく、過剰に産生された活性酸素種の一部は宿主細胞にも障害を及ぼし、歯周組織の破壊にもつながると考えられている。

近年の臨床研究において、歯周病と酸化ストレスとの関連性についても様々な研究が行われるようになってきた。特に歯周病と全身疾患との関連を考えるには、血液中の酸化ストレス状態に着目する必要がある。歯周病が進行し、歯周組織の炎症が増悪するとともに活性酸素種の産生が増加し、血流に拡散することが分かっている¹⁰⁾。血流中の酸化ストレスが上昇するという事は、様々な分子が酸化され、各臓器にまでそれらが届けられるということである。その結果として各臓器においてDNA酸化が確認され¹¹⁾、その後も徐々に障害が進んでいくことも知られている。それゆえ、歯周病によって引き起こされた血流中の酸化ストレスの増加は、全身の臓器に障害を引き起こすことで健康に悪影響を与えると推測される。

以上のように血液中の酸化ストレスと歯周病の関連について研究することは非常に有意義であり、今までにも様々な研究が行われてきている。例えば、対照群に比べて慢性歯周病患者の方が歯周病健常者に比べて血液中における脂質酸化レベルが高く、総抗酸化力にも影響があったとの研究¹²⁾ や、タンパク質酸化の指標であるカルボニルレベルが有意に高かった研究¹³⁾ などが報告されている。これらのことは、血液中の酸化ストレスの上昇は、臨床的な歯周病態と関連していたことを示している。

我々もまた、これまで歯周病と血液中の酸化ストレスとの関連についての研究を行ってきた。活性酸素種はいずれも消失時間が非常に短く、血液中における実際の発現量を測定するのは非常に困難である。そこで、血液中の酸化ストレスの評価のために、酸化ストレス度 (reactive oxygen metabolites; ROM) と抗酸化力 (biological antioxidant potential; BAP) を測定した。酸化ストレス度は、生体内の活性酸素種やフリーラジカルを直接測定するのではなく、それらの酸化作用によってDNA、タンパク質や脂質などに生じた血液中のヒドロペルオキシド (ROOH) の濃度を呈色反応で測定することで評価をする指標である。測定原理としては、酸性溶液中において2価鉄 (Fe^{2+}) と3価鉄 (Fe^{3+}) がイオン化し、これら鉄イオンが触媒となってフェントン反応により、酸化の過程で形成されたヒドロペルオキシド群がアルコキシルラジカル (RO^{\cdot}) とペルオキシラジカル (ROO^{\cdot}) に分解され、フリーラジカルとなる。これに呈色クロモゲン (N,N ジエチルパラフェニレンジアミン) を加えることで酸化され、フリーラジカルの量に応じて赤紫色のラジ



カル陽イオン ($[A-NH_2]^+$) に変化する特性を利用する。このラジカル陽イオンの濃度は血中にあるヒドロペルオキシドの量を反映し、活性酸素種の影響を受けて生じた活性酸素代謝産物の量に直接比例する。単位は U.CARR で示されるが、これは過酸化水素 0.08 mg/dl に相当する。また抗酸化力 (BAP) の方は、血液中の抗酸化物質が活性酸素種やフリーラジカルに電子を与え、酸化反応を止める還元能力を測定することで評価した。

2. 臨床研究における関連性

我々はまず初めに、横断研究として歯周病と酸化ストレス度・抗酸化力との関連性についての研究を行った。対象は歯周病の基本治療後に症状が安定し、歯周病メンテナンス期となっている患者とした¹⁴⁾。さらに、酸化ストレスは糖尿病などの全身疾患とも関連することが分かっているため、全身的に健康で投薬治療を受けていない患者を選び、歯周病の臨床指標と酸化ストレス度・抗酸化力との相関関係を検討した。酸化ストレス度においては、残存歯数 ($r = -0.230$, $p = 0.039$)、アタッチメントロス ($r = 0.281$, $p = 0.011$) とアタッチメントロス 4 mm 以上の部位の割合 ($r = 0.236$, $p = 0.034$) との相関が認められた。さらに、酸化ストレス度の高い群において、アタッチメントロスとアタッチメントロス 4 mm 以上の部位の割合が有意に高かった¹⁴⁾。一方、抗酸化力においてはどの臨床指標とも相関関係が認められなかった。以上のことから、血流中に高い酸化ストレス状態が認められた場合、歯周病の進行に何らかの影響があった可能性が示唆された。

さらに、長崎県五島列島における地域住民健診での歯周病と血液中の酸化ストレス度、歯周病原性細菌の抗体

レベルとの関連を検討した¹⁵⁾。40歳以上の200名の住民を対象として研究を行った結果、歯周ポケットの深い群においては酸化ストレス度が高く、アタッチメントロスの大きい群においては酸化ストレス度と *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) の血清抗体価が高かった。年齢、性別や全身疾患などを調整したロジスティック回帰分析の結果、歯周病進行群において酸化ストレス度が強く関連していた(調整 odds 比: 7.928, 95%信頼区間: 3.000-20.956)¹⁵⁾。これらのことから、歯周病原性細菌の血清抗体価よりも酸化ストレス度の方が歯周病との関連が強いことが示された。

これらの結果により、酸化ストレスと歯周病との有意な関連性が示された。しかしながら、横断的な研究からだけでは歯周病の進行において酸化ストレスが原因であるのか、結果であるのかは不明である。そこで我々は、もし歯周病によって酸化ストレスが上昇しているのであれば、歯周病の治療によって症状が改善すれば血流中の酸化ストレスもまた減少するはずであるとの仮説を立てた。このことを証明するために、次に縦断的な介入研究を行った。歯周病患者に対して歯周基本治療の前後に、酸化ストレス度、抗酸化力、C 反応性タンパク (CRP) や酸化低比重リポタンパク (oxidized low-density lipoprotein; ox-LDL) がどのように変化するかについての研究である^{16, 17)}。歯周精密検査と血液採取・検査は、初診時 (ベースライン)、1 か月後と 2 か月後に実施した。抗酸化力の測定には、次亜塩素酸の酸化に対抗する血液の総抗酸化力を測定するために OXY 吸着テストを用いた。さらに、酸化ストレス度と抗酸化力を同時に評価するために、酸化ストレス指標 (Oxidative Index) を用いた¹⁸⁾。その結果、歯周基本治療によってベースライ

ン時に比べて1か月後の酸化ストレス度, CRP, oxLDLと酸化ストレス指標の値は有意に減少しており, 2か月後にはさらなる減少が認められた。一方, 抗酸化力であるOXY吸着の方は経時的に増加していた。さらに, 2か月後には酸化ストレス指標と歯肉出血部位とoxLDLの減少量に正の相関関係が認められた¹⁷⁾。これらの介入研究をまとめると, 非外科的な歯周基本治療を行った結果, 歯周病の臨床指標の改善は無論のこと, 酸化ストレス度, CRP, oxLDLと酸化ストレス指標の改善が認められた。歯周病患者に歯周治療を行うことは酸化ストレスの改善に有効であり, さらにこのことにより全身疾患の予防に有益である可能性が示唆された。

3. 動物実験における抗酸化物質と歯周病

歯周病の原因は単純ではなく, 様々な要因が因果関係を構成する“complex disease”であると考えられている¹⁹⁾。その治療方法としては, 歯肉縁下菌叢の細菌叢を減少させたり変化させるだけでなく, 宿主因子からのアプローチも検討されている。その一環として, 近年では酸化ストレスの制御によって歯周病予防を行おうという研究が着目されている。そのメカニズムとしては, 歯肉縁下の菌叢細菌叢からの刺激によって好中球を中心とした多形核白血球から活性酸素種が過剰に産生されるが, この活性酸素種が血流によって全身を巡り, 歯肉にも更なる炎症を引き起こすという悪循環を抑制しようとするものであり, 抗酸化物質によって過剰な活性酸素種を除去することで, この悪循環を解消させようとする考え方である(図2)。現在行われている試みとしては, 実験的歯周病を惹起させた動物実験において, 抗酸化物質を摂取させることで歯周病の進行を予防したり, 炎症を減少させる研究が行われている。その代表的な研究のまとめを表1に示し^{20-25, 28-36)}, それぞれの詳細について以下に述べたいと思う。

1) Tempol

Tempol (4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl)は生体膜透過性を持つ可溶性の低分子窒素化合物であるが, スーパーオキシドや過酸化水素を減弱し, ヒドロキシルラジカルの形成を阻害するなどの作用を持つ。さらに炎症を減少させ, 疾患に関連した局所や全身的な組織障害を防ぐことが出来るという研究が行われてきた。ラットにおける実験的歯周病モデルにおいて, Tempolを腹腔内投与したところ歯槽骨吸収が抑制されたと報告された²⁰⁾。さらに, 歯肉において多形核白血球の浸潤が抑制され, ペルオキシナイトライト形成の特異的なマーカーとなるニトロチロシンの産生が抑制されていた²⁰⁾。

2) 抗酸化ビタミン類

ビタミン類における代表的な抗酸化物質として, 水溶性のビタミンC, 脂溶性のビタミンE, およびビタミン

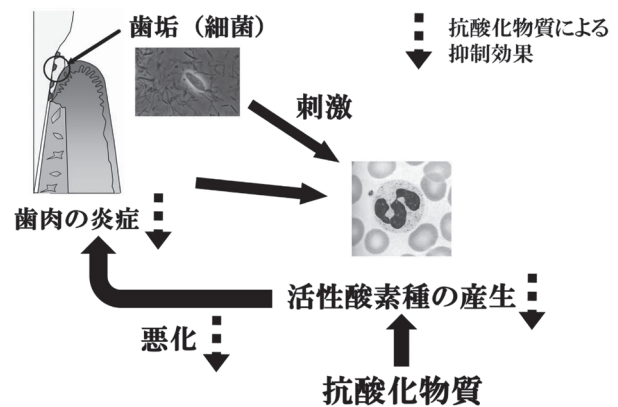


図2 抗酸化物質による歯周病の進行抑制

表1 実験的歯周病における抗酸化物質の効果を検討した論文(動物実験)

抗酸化物質	雑誌	発表年	参考文献
Tempol	<i>J Clin Periodontol</i>	2005	20
Omega-3	<i>Oral Microbiol Immunol</i>	2007	35
Vitamin C	<i>J Periodontol</i>	2007	21
	<i>Arch Oral Biol</i>	2009	22
	<i>Free Radic Biol Med</i>	2009	23
Baicalin	<i>J Periodont Res</i>	2008	29
Cocoa	<i>J Periodontol</i>	2009	31
Hydrogen-rich water	<i>J Clin Periodontol</i>	2011	28
Catechin (Tea)	<i>Arch Oral Biol</i>	2011	32
Vitamin E	<i>Arch Oral Biol</i>	2013	24
CoQ10	<i>J Dent Res</i>	2013	25
EGCG	<i>J Periodont Res</i>	2013	33
Melatonin	<i>Free Radic Biol Med</i>	2013	36
Quercetin	<i>J Nat Prod</i>	2013	30
Resveratrol	<i>Free Radic Biol Med</i>	2014	34

様物質である脂溶性のコエンザイム Q10 (CoQ10) が知られている。ビタミンCの摂取によって, 歯槽骨の骨塩濃度が上昇し, 歯周組織中のミトコンドリアと血液中において, DNA酸化指標の一つである8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)の濃度が統計学的有意に減少した²¹⁾。また, 血液中の抗酸化力は有意に上昇していた²¹⁾。さらに歯槽骨吸収を抑制し, 破骨細胞の分化を抑制し, 脂質酸化の指標の一つである血中のヘキサノイルリジンを減少させる効果も認められた²²⁾。別な研究においては, 血液中のビタミンC濃度を上昇させることで酸化ストレス度を改善し, 細胞の抗酸化力の指標でもあるグルタチオン比を歯肉において改善した²³⁾。また, 歯肉におけるreal-time microarray分析の結果, 9種類の遺伝子において2倍以上の発現量の変化があり, そのうちの7種類が統計学的に有意な差が認められた。特に減少した遺伝子の中にはアポトーシスに関連するCaspase-1, 細胞周期に関連するProliferating

cell nuclear antigen (PCNA), 炎症性サイトカインである IL-1 α , IL-1 β と IL-6, さらに一酸化窒素の産生に関連する inducible Nitric oxide synthase (iNOS) などがあり, ビタミン C が様々な作用を示していることが分かった²³⁾。リガチャーによって惹起された実験的歯周病モデルにビタミン E を摂取させた結果, 歯肉の炎症を改善し iNOS の発現を抑制したが, 歯槽骨吸収の抑制効果は認められなかった²⁴⁾。さらに, 老化による実験的歯周病モデルに CoQ10 を歯肉に塗布して摂取させたところ, 炎症性サイトカインの IL-1 β の発現が減少し, 歯肉のミトコンドリアや血液中の DNA 酸化マーカーである 8-OHdG 濃度が減少していた²⁵⁾。

3) 分子状水素

2007 年に脳梗塞動物モデルに対する分子状水素摂取の顕著な治療効果が報告²⁶⁾ されてから, 分子状水素の様々な作用について注目が集まっている。分子状水素の効果として, 抗炎症作用, 抗アポトーシス作用や抗アレルギー作用があり, さらにエネルギー代謝を促進することも分かってきている²⁷⁾。分子状水素は, 強力な酸化作用を示すヒドロキシルラジカルとペルオキシナイトライトを選択的に減少させるが, 直接的な抗酸化作用だけでは説明できないほど多方面にわたる生体内作用を示していると多くの議論を生んでいる。その摂取方法としては, 水素ガス (4%未満) の吸入や分子状水素を溶解した水 (水素水) などがあるが, ただちに吸収されて各臓器の細胞に至り, 脂質二重層からなる細胞膜を通過して細胞核やミトコンドリアなどに作用すると考えられている²⁷⁾。分子状水素は様々な全身的な疾患に対して効果があると報告されてきているが, 実験的歯周病においてもまた投与の試みが行われた。リガチャーで歯周病を惹起させたラットに水素水を飲料水として摂取させたところ, 歯槽骨吸収の進行が抑制された。また, 歯周組織における 8-OHdG, ペルオキシナイトライトによる酸化の結果産生されるニトロチロシンの発現が抑制され, 血液中の酸化ストレス度は減少していた²⁸⁾。

4) ポリフェノール類

ポリフェノールはたくさん (ポリ) のベンゼン環のついた水酸基 (フェノール) という意味であり, 多くの植物の葉, 樹皮, 茎, 花, 果皮や種子に含まれている。植物の生産する非栄養成分であるが, 第 8 の栄養素とも呼ばれているファイトケミカルの一種である。また, 構造の違いによっていくつかのグループに分類されているが, その中でも最も種類の多いのがフラボノイド類であり, イソフラボン, アントシアニン, ケルセチン, バイカリンやカテキンなどが含まれ, その他としてはレスベラトロールが知られている。茶の渋み成分でもあるカテキンはフラボノイドの一種であるが, その主要成分としてエピガロカテキンガラート (EGCG) が含まれている。

これらはすべて抗酸化物質としての作用を持つが, 実験的歯周病に投与されて効果が検討されている (表 1)。

バイカリンは薬草の一種であるコガネバナ (*Scutellaria baicalensis*) から抽出されたフラボノイドの一種であるが, 抗炎症作用や抗酸化作用を持つことが分かっている。リガチャーで実験的歯周病を惹起されたラットにバイカリンを経口強制投与させたところ歯槽骨吸収を抑制し, コラーゲン線維の増殖を促進していた²⁹⁾。さらに, iNOS と cyclooxygenase-2 陽性細胞の発現と歯肉組織におけるタンパク質レベルでの発現を抑制していた²⁹⁾。また, 玉ねぎや柑橘類に含まれる黄色のフラボノイドの一種であるケルセチンは, 抗炎症作用や抗酸化作用によって大腸炎, 糖尿病やぜんそく等の疾患に対して進行抑制作用を示すことが分かっている³⁰⁾。Aggregatibacter actinomycetemcomitans (*A. actinomycetemcomitans*) の投与によって実験的歯周病を惹起されたマウスに, このケルセチンを皮下注射したところ, 実験終了後の口腔内ぬぐい液における *A. actinomycetemcomitans* の菌数は対照群と有意な差はなかったが, 歯槽骨の吸収は抑制されていた。歯肉組織においては, IL-1 β や TNF- α の発現濃度は抑制され, intercellular adhesion molecule-1 の発現量も減少していた³⁰⁾。さらに, フラボノイドを豊富に含有するココアを食餌として与えた場合, 血液中の炎症性サイトカインである TNF- α 濃度と酸化ストレス度は減少し, 抗酸化力は上昇していた³¹⁾。また, 歯槽骨吸収は抑制され, 歯肉における 8-OHdG 濃度は減少し, 抗酸化力を示すグルタチオン比は上昇していた³¹⁾。以上のように, 3 種類のフラボノイドは全て実験的歯周病進行の抑制に効果があった。特に, 抗菌作用はなかったのに進行抑制効果を示したことは興味深く, フラボノイドの特異的作用なのかもしれない。

カテキンはビタミン C やビタミン E よりも何倍も強抗酸化力を持つと言われているが, これについてもいくつか研究が行われている。ラットの歯肉溝に LPS と protease を投与することで歯周病を惹起する実験系に, 歯磨剤を想定して同時に緑茶カテキンを歯肉溝に塗布した研究においては, 多形核白血球の浸潤と歯槽骨吸収を抑制し, 歯肉組織におけるヘキサノイルリジン陽性細胞数とニトロチロシン陽性細胞数を減少させる効果があった³²⁾。また, カテキンの主成分である EGCG をリガチャーで歯周病を惹起させたラットに経口強制投与させたところ, 歯槽骨吸収を抑制し, 接合上皮や歯槽骨における炎症性サイトカイン (TNF- α , IL-6) 陽性細胞数を有意に減少させ, 破骨細胞の数と活性を抑制していた³³⁾。

レスベラトロールは, ブドウの果皮に含まれることで赤ワイン中の抗酸化物質の一つとしても知られるとともに, いくつかの植物でファイトケミカルとして機能している。また, 寿命延長作用についての研究が酵母においてまず発表され, その後に線虫, ハエ, 魚類など

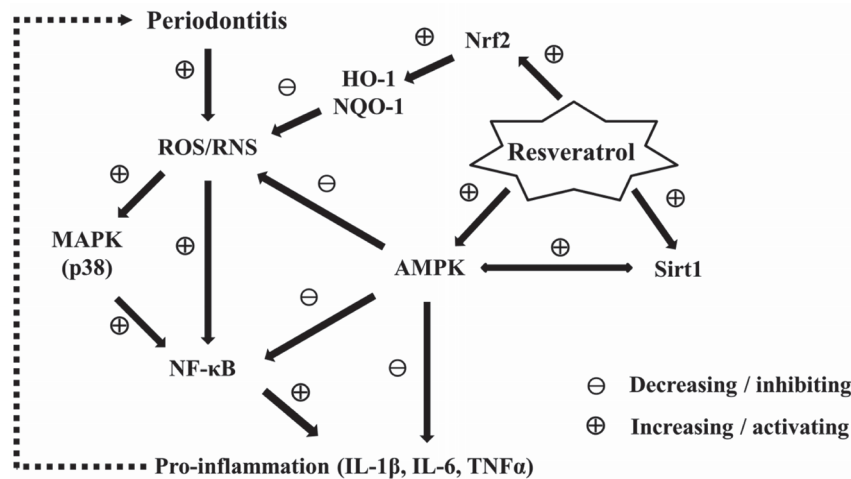


図3 レスベラトロールによる歯周病進行抑制の概要

の寿命延長が報告された。さらに、ヒトと同じ哺乳類であるマウスの寿命を延長させるとの効果が発表され、種をこえた寿命延長効果があると大きな注目を集めている。また、Sirtuin は yeast *S.cerevisiae* の silent information regulation 2 (Sir 2) の哺乳類の同族体であり、長寿遺伝子またはアンチエイジング遺伝子とも呼ばれ、飢餓、カロリー制限や運動によって活性化することで、加齢、メタボリックシンドローム、神経変性疾患、癌や心血管機能障害などの疾患と関連すると言われている。Sirtuin 1 自体はヒストン脱アセチル化酵素であり、これが活性化するとヒストンが脱アセチル化されて、ヒストンのアルカリ性を示す豊富なアミノ基と核酸の名が示すように酸性の性質を有する DNA との親和力が高まり、ヒストンと DNA が強く結び付いて遺伝子の発現が抑制され、DNA が休眠状態に入ることとなる。これと反対に、ヒストンがアセチル化されるとヒストンと DNA の親和力が低くなり、通常の遺伝子発現が活発化される。飢餓のような過酷な環境下では DNA の活動が抑制され、DNA の安定化へと変化する。このことが結果的に DNA の損傷防止につながり、DNA の損傷防止は直接的に長寿につながる事が知られている。さらに、近年ではレスベラトロールがこの Sirtuin タンパク質を活性化するとわれ注目されている。Sirtuin 1 は単細胞の酵母から、線虫やヒトまで広く分布し、ヒトの体内の全ての器官、例えば脳、心臓、肝臓、膵臓、骨格筋、脾臓や脂肪細胞に発現することも分かっているが、歯肉ではまだ検討されていなかった。そこで我々は、リガチャーによって実験的歯周病を惹起させたラットにレスベラトロールを飲料水として与える研究を行った³⁴⁾。その結果として、動物実験用 3D マイクロ X 線 CT を用いて歯槽骨の吸収量を測定したところ、レスベラトロールの摂取によって実験的歯周病で引き起こされた歯槽骨の吸収が抑制されていた。歯肉組織において、mRNA レベルとタンパク

質レベルにおいて Sirtuin 1 の発現量が増加し、それに関連して AMP-activated protein kinase (AMPK) のリン酸化も亢進していた。また、nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) pathway の活性化に伴い phase II 抗酸化酵素の発現も増加し、尿中の 8-OHdG 濃度とタンパク酸化の指標であるジチロシン濃度の減少および血中の窒素代謝物 ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) 濃度とニトロチロシン濃度の減少がみられ、炎症性サイトカイン ($\text{IL-1}\beta$, IL-6 , $\text{TNF-}\alpha$) においては歯肉のみならず血中においても一部は減少していた³⁴⁾。以上のことから、レスベラトロールは多面的な pathway に作用することによって抗酸化作用および抗炎症作用を及ぼすことが示された (図3)。

おわりに

ランダム化比較を用いて介入した臨床研究において、歯周病患者に抗酸化物質を投与して歯周病の治療や進行予防を検討する研究のエビデンスは、まだまだ不足しているというのが現状である。しかも近年、高濃度のビタミン E を摂取しても心血管疾患の予防に効果がないのではないかという見解が出てきている³⁷⁾。活性酸素種はただ単に有害であるという訳ではなく、細胞の分化や増殖に関与するという 2 面性を持つ。抗酸化物質の摂取が過剰になることによって活性酸素種の発生を抑制しすぎるとは、あるいは無意味なことかもしれない。抗酸化物質にはさまざまな種類があり、その効果についても直接的に活性酸素種を除去するだけのものから、間接的に抗酸化酵素の発生を促進するものまで多種多様の形態をとっている。今後は、ただ強力に活性酸素種を除去するだけではなく、歯周病などの疾患の治療や進行予防に有意義な抗酸化物質を探索し、最終的には臨床研究においてその効果を確かめたいと考えている。

参考文献

- 1) Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telser J: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39, 44-84 (2007)
- 2) Halliwell B: Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *Lancet* 344, 721-724 (1994)
- 3) McCord M: The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 108, 652-659 (2000)
- 4) Halliwell B: Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev* 70, 257-265 (2012)
- 5) Page RC, Engel LD, Narayanan AS and Clagett JA: Chronic inflammatory gingival and periodontal disease. *JAMA* 11, 545-550 (1978)
- 6) Page RC and Kornman K: The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000 14, 9-11 (1997)
- 7) Chapple IL, Brock GR, Milward MR, Ling N and Matthews JB: Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: cause or effect? *J Clin Periodontol* 34, 103-110 (2007)
- 8) Sculley DV and Langley-Evans SC: Salivary antioxidants and periodontal disease status. *Proc Nutr Soc* 61, 137-143 (2002)
- 9) Lamont RJ and Jenkinson LJR: Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev* 62, 1244-1263 (1998)
- 10) Sobaniec H and Sobaniec-Lotowska ME: Morphological examinations of hard tissues of periodontium and evaluation of selected processes of lipid peroxidation in blood serum of rats in the course of experimental periodontitis. *Med Sci Monit* 6, 875-881 (2000)
- 11) Tomofuji T, Ekuni D, Irie K, Azuma T, Tamaki N, Maruyama T, Yamamoto T, Watanabe T and Morita M: Relationships between periodontal inflammation, lipid peroxide and oxidative damage of multiple organs in rats. *Biomed Res* 32, 343-349 (2011)
- 12) Akalın FA, Baltacıoğlu E, Alver A and Karabulut E: Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 34, 558-565 (2007)
- 13) Baltacıoğlu E, Akalın FA, Alver A, Deg'er O and Karabulut E: Protein carbonyl levels in serum and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol* 53, 716-722 (2008)
- 14) Tamaki N, Tomofuji T, Maruyama T, Ekuni D, Yamanaka R, Takeuchi N and Yamamoto T: Relationship between periodontal condition and plasma reactive oxygen metabolites in patients in the maintenance phase of periodontal treatment. *J Periodontol* 79, 2136-2142 (2008)
- 15) Tamaki N, Hayashida H, Fukui M, Kitamura M, Kawasaki K, Nakazato M, Maeda T, Saito T and Ito H-O: Oxidative stress and antibody levels to periodontal bacteria in adults: Nagasaki Island Study. *Oral Dis* 20, 49-56 (2014)
- 16) Tamaki N, Tomofuji T, Ekuni D, Yamanaka R, Yamamoto T and Morita M: Short-term effects of non-surgical periodontal treatment on plasma level of reactive oxygen metabolites in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 80, 901-906 (2009)
- 17) Tamaki N, Tomofuji T, Ekuni D, Yamanaka R and Morita M: Periodontal treatment decreases plasma oxidized LDL level and oxidative stress. *Clin Oral Investig* 15, 953-958 (2011)
- 18) Vassalle C, Pratali L, Boni C, Mercuri A and Ndreu R: An oxidative stress score as a combined measure of the pro-oxidant and anti-oxidant counterparts in patients with coronary artery disease. *Clin Biochem* 41, 1162-1167 (2008)
- 19) Chapple IL: Periodontal diagnosis and treatment -where does the future lie? *Periodontology* 2000 51, 9-24 (2009)
- 20) Di Paola R, Mazzon E, Zito D, Maiere D, Britti D, Genovese T and Cuzzocrea S: Effects of Tempol, a membrane -permeable radical scavenger, in a rodent model periodontitis. *J Clin Periodontol* 32, 1062-1068 (2005)
- 21) Sanbe T, Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Irie K, Tamaki N and Yamamoto T: Oral administration of vitamin C prevents alveolar bone resorption induced by high dietary cholesterol in rats. *J Periodontol* 78, 2165-2170 (2007)
- 22) Sanbe T, Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Irie K, Tamaki N, Yamamoto T and Morita M: Vitamin C intake inhibits serum lipid peroxidation and osteoclast differentiation on alveolar bone in rats fed on a high-cholesterol diet. *Arch Oral Biol* 54, 235-240 (2009)
- 23) Tomofuji T, Ekuni D, Sanbe T, Irie K, Azuma T, Maruyama T, Tamaki N, Murakami J, Koeguchi S and Yamamoto T: Effects of vitamin C intake on gingival oxidative stress in rat periodontitis. *Free Radic Biol Med* 46, 143-148 (2009)
- 24) Carvalho RS, de Souza CM, Neves JC, Holanda-Pinto SA, Pinto LM, Brito GA and de Andrade GM: Vitamin E does not prevent bone loss and induced anxiety in rats with ligature-induced periodontitis. *Arch Oral Biol* 58, 50-58 (2013)
- 25) Yoneda T, Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Endo Y, Kasuyama K, Machida T and Morita M: Anti-aging

- effects of co-enzyme Q10 on periodontal tissues. *J Dent Res* 92, 735-739 (2013)
- 26) Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, Katsura K, Katayama Y, Asoh S and Ohta S: Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med* 13, 688-694 (2007)
- 27) Ohta S: Recent progress toward hydrogen medicine: potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic applications. *Curr Pharm Des* 17, 2241-2252 (2011)
- 28) Kasuyama K, Tomofuji T, Ekuni D, Tamaki N, Azuma T, Irie K, Endo Y and Morita M: Hydrogen-rich water attenuates experimental periodontitis in a rat model. *J Clin Periodontol* 38, 1085-1090 (2011)
- 29) Cai X, Li C, Du G and Cao Z: Protective effects of baicalin on the ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodont Res* 43, 14-21 (2008)
- 30) Napimoga MH, Clemente-Napimoga JT, Macedo CG, Freitas FF, Stipp RN, Pinho-Ribeiro FA, Casagrande R and Verri WA Jr: Quercetin inhibits inflammatory bone resorption in a mouse periodontitis model. *J Nat Prod* 76, 2316-2321 (2013)
- 31) Tomofuji T, Ekuni D, Irie K, Azuma T, Endo Y, Tamaki N, Sanbe T, Murakami J, Yamamoto T and Morita M: Preventive Effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J Periodontol* 80, 1799-1808 (2009)
- 32) Maruyama T, Tomofuji T, Endo Y, Irie K, Azuma T, Ekuni D, Tamaki N, Yamamoto T and Morita M: Supplementation of green tea catechins in dentifrices suppresses gingival oxidative stress and periodontal inflammation. *Arch Oral Biol* 56, 48-53 (2011)
- 33) Cho AR, Kim JH, Lee DE, Lee JS, Jung UW, Bak EJ, Yoo YJ, Chung WG and Choi SH: The effect of orally administered epigallocatechin-3-gallate on ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodont Res* 48, 781-789 (2013)
- 34) Tamaki N, Orihuela-Campos R, Inagaki Y, Fukui M, Nagata T and Ito H-O: Resveratrol improves oxidative stress and prevents the progression of periodontitis via the activation of the Sirt1/AMPK and the Nrf2/antioxidant defense pathways in a rat periodontitis model. *Free Radic Biol Med* 75, 222-229 (2014)
- 35) Kesavalu L, Bakthavatchalu V, Rahman MM, Su J, Raghu B, Dawson D, Fernandes G and Ebersole JL: Omega-3 fatty acid regulates inflammatory cytokine/mediator messenger RNA expression in *Porphyromonas gingivalis*-induced experimental periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* 22, 232-239 (2007)
- 36) Kara A, Akman S, Ozkanlar S, Tozoglu U, Kalkan Y, Canakci CF and Tozoglu S: Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radic Biol Med* 55, 21-26 (2013)
- 37) Brown BG and Crowley J: Is there any hope for vitamin E? *JAMA* 293, 1387-1390 (2005)